

影响紫背天葵试管苗花青甙含量的因素 II

张兰英 李耿光

(中国科学院华南植物研究所)

摘要 本文叙述激素、光、培养温度和时间对紫背天葵试管苗花青甙含量的影响。NAA在0.125—1.0毫克/升范围内能增加花青甙含量，以0.125毫克/升效果最好，BA、2ip、ZT降低花青甙含量。光能明显提高紫背天葵的花青甙含量，在试验范围内，花青甙含量随光照强度的增加而增加；比较了蓝、白、红三种单色光单独及结合照射的作用，对提高花青甙含量表现为蓝光>红光>白光，红、蓝两色光结合一起照射时比它们单独使用的效果更好，对促进生长的作用是白光>红光>蓝光，单色光对花青甙含量的影响与照射的顺序无明显关系。培养温度为25℃时，在90天内对紫背天葵的生长及花青甙含量的提高都有利。在试验条件下，培养95天左右的时间是适宜的采收期。

关键词 花青甙含量，紫背天葵，试管苗

前文^[1]报道了培养基成分、pH、糖及椰乳对紫背天葵 (*Begonia fimbriatipula* Hance) 试管苗花青甙含量的影响。而激素的种类^[2, 4, 10]、浓度^[3, 7]、光的强度^[5, 8]、颜色^[9, 10]、光谱^[7, 12, 13]及培养温度^[11, 12]对控制条件下培养的植株、愈伤组织和细胞花青甙的形成和积累亦有明显的作用，且不同种植物对以上因子要求的最适条件是不同的，因此我们继续对以上因子影响紫背天葵试管苗花青甙含量作了试验。

材料与方 法

实验用的材料、花青甙含量测定方法及文中数据来源与前文同^[1]。

一般试验材料接种在1/2 SH+IBA (0.25毫克/升) +蔗糖3% (或葡萄糖) 的培养基中。培养在 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 室中，在光强度为1400勒克司下，每天光照12—14小时，特殊情况在图表中标明。试验的激素都是在消毒前加入培养基中。

光照试验中光的来源是：光强度试验，由华东电子管厂制造的40瓦日光灯，分别由1, 2, 3支光管组成，用照度计测定其光强度 (勒克司)，单色光试验亦由上述厂出产的白色 (4600—6800Å)、蓝色 (4000—5000Å)、玫红色 (6000—7000Å) 光管2支组成；混合色 (白红、红蓝) 即为每种色光管各1支；变光试验是采用上述单色光，

结果与讨论

〈一〉激素对花青甙含量的影响

1. NAA 对花青甙含量的影响

生长素 NAA 在 *Petunia hybrida* [3] 中超过 0.5 $\mu\text{g/l}$ 及在 *Hloplopapus gracilis* [4] 中超过 $10^{-5} M$ 的浓度时, 对培养细胞色素的产生有抑制作用, 而在 *Populus* [10] 细胞悬浮培养中, 对花青素的形成则是所试生长素中最有效的。我们将各种浓度 NAA 与 BA (0.5 毫克/升) 配搭使用, 得出结果如图 1, 它表明 NAA 对紫背天葵试管苗花青甙含量有促进作用, 所试四种浓度 (0.125、0.25、0.5、1.0 毫克/升) 的花青甙含量都比对照高。效果最好的浓度为 0.125 毫克/升, 超过此浓度后, 促进的效果随浓度的升高而逐渐降低。

2. 细胞分裂素对花青甙含量的影响
各种细胞分裂素 (0.5 毫克/升) 与 NAA (0.125 毫克/升) 搭配使用对花青甙含量影响如表 1: 使用的四种细胞分裂素

中, KT 对花青甙含量有微弱的促进作用, 这与 F. Constabel 等 [4] 的结果基本一致, 而与 Takashi Matsumoto [10] 得出 KT 明显抑制花青甙形成结果不同。而 BA、2ip、ZT 表现为有抑制作用, 花青甙含量与对照相比不同程度降低。

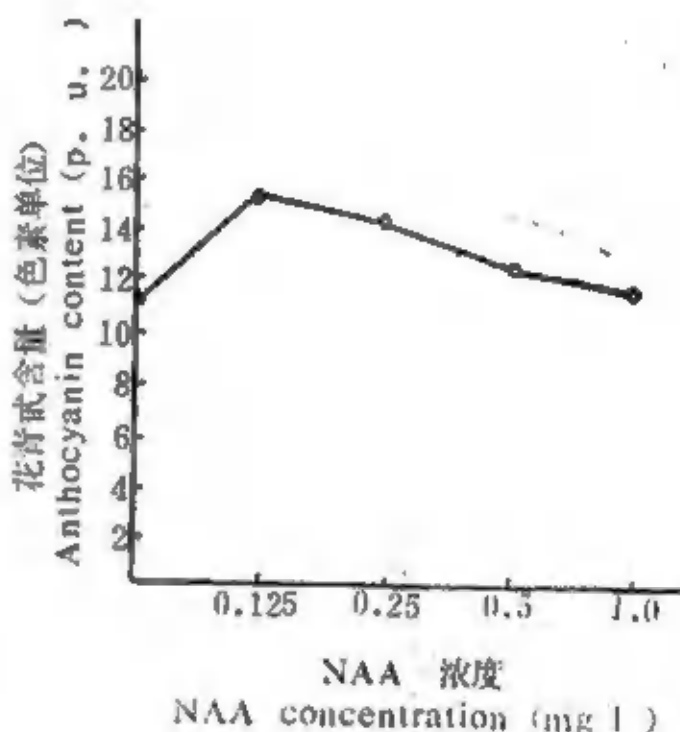


图 1 NAA 浓度对花青甙含量的影响

Fig 1. Effect of NAA concentration on the anthocyanin content

• 培养温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (Temp. of incubation $25 \pm 1^\circ\text{C}$)

表 1. 细胞分裂素对花青甙含量的影响

Table 1. Effect of cytokinin on the anthocyanin content (cytokinin 0.5 mg/l, NAA 0.125 mg/l)

细胞分裂素 cytokinins	花青甙含量 (色素单位) anthocyanin content (p. u.)
对照 (check)	9.73
KT	10.25
BA	7.50

(二) 光对花青甙含量的影响

光对某些植物花青素的形成是必要的〔6、8、11〕, 且与光的强度、照射时间长短、所用光谱及其变化有关〔7〕。Harry Smith等〔9〕研究了 Alaska pea的花青素形成过程中光照与PAL酶(Phenylalanine ammonialyase)的活性之间存在一定的关系。为了研究光对紫背天葵花青甙含量的影响, 做了三方面的试验, 即光照强度、不同单色光和变光。

1. 光照的作用 从图2看出, 光对提高紫背天葵的生长量及花青甙含量有明显的促进作用。在黑暗条件下生长的紫背天葵像绿豆芽似的, 叶柄透明细长, 叶片很小, 色素很淡, 在光照的条件下, 紫背天葵的营养生长主要是叶片, 且色素深。在试验范围内, 苗的花青甙含量随光照强度的增加而增加。已有报道, Cross〔2〕, 实生苗光强度为0.15米烛光时, 花青素约130%, 当光强度提高到4.5米烛光时则为200%。Turnip和Red cabbage〔8〕实生苗花青素增长量与萤光光源的光强度有线性关系。我们的结果支持了上述观点。

2. 单色光的作用 Takashi Matsumoto等〔10〕在 *Populus* 细胞悬浮培养中指出: 细胞的生长明显地被红光促进, 被蓝光抑

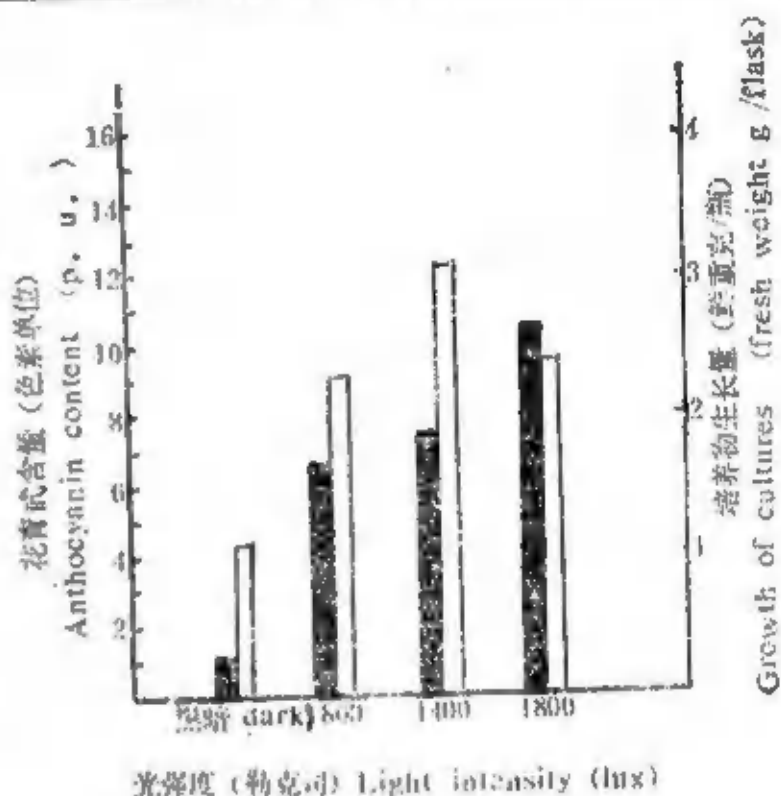


图2. 光照对花青甙含量的影响

Fig 2. Influence of light irradiation on the anthocyanin content

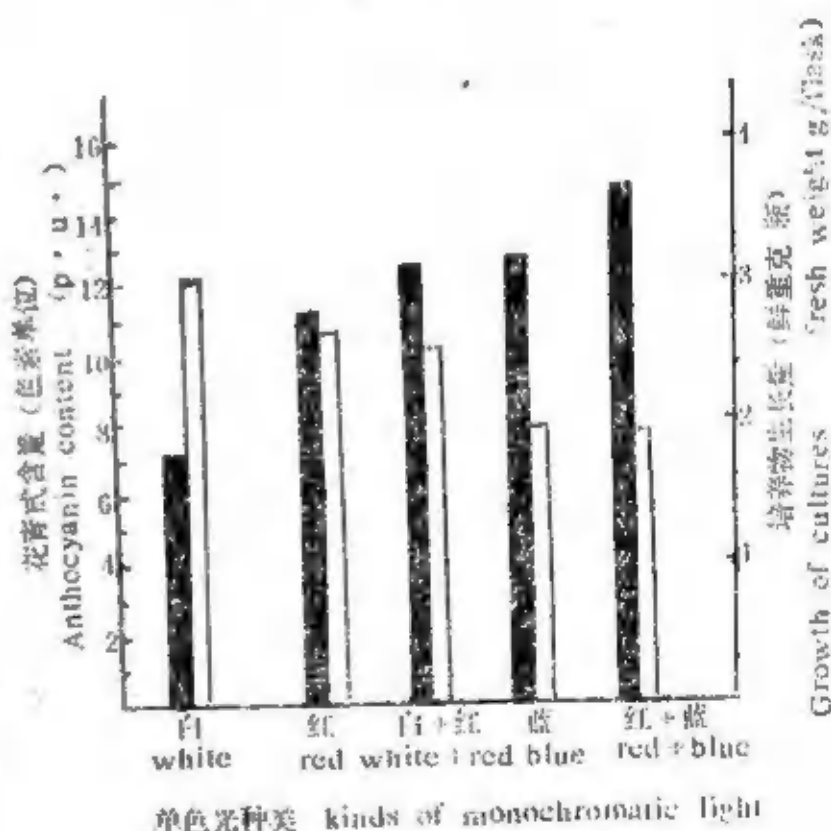


图3. 单色光对花青甙含量影响

Fig 3. Influence of monochromatic light irradiation on the anthocyanin content

● 1. ■ 花青甙含量 (anthocyanin content); □ 培养物生长量 (growth of cultures)。

2. 图2、3的实验是同时用相同材料做的。

Red cabbage 和 Turnip 实生苗^[8]作用最大的光波是7250Å⁰, 朝向较短波长, 作用减小。

我们试验的单色光种类及结果如图3, 对紫背天葵花青甙的含量, 红、蓝两色光比白光有较强的促进作用, 蓝光比红光的作用更好, 蓝光和红光一起照射时比他们单独照射时的效果又更好, 花青甙含量达到最高。这结果基本与 *Populus* 一样。看来, 不同植物对单色光的反应差异较大。

3. 变光的作用 为了研究紫背天葵花青甙形成中各种单色光之间是否存在因照射先后而产生相互抵消或增效的作用, 我们作了如图4的试验, 结果表明: 红、白、蓝三种单色光照射顺序的先后对色素含量无明显的影响, 它们之间也不存在因照射的先后而产生的相互抵消作用, 它们对花青甙含量的影响与单独一色光照结果基本一致; 受红—蓝光照的苗花青甙含量最高, 白—蓝光的次之, 红—白光照的最低; 对苗的生长相反, 白—红光照的鲜重最高, 白—蓝光照的最低, 红—蓝光照的介于中间。白光和红光对生长的促进作用比蓝光强。

(三) 培养温度对花青甙含量的影响

某些植物到了秋季气温降低的时候, 叶片产生花青素而变色, 一般认为低温有利于花青素形成。Kenneth V. Thimann^[11, 12]报道, 低温对苹果皮花青甙的积累是有利的, 葡萄、血橙亦如此。在高温中培养的 *Spirodela oligorrhiza* 花青甙形成减少。

紫背天葵试验的温度及结果如表2, 培养90天测定, 表现为较高温度的花青甙含量高于较低温度中的。培养温度为25°C时, 紫背天葵苗的生长量及花青甙含量较好, 它们比在20°C中分别增加49%和22%, 比28°C中的分别增加21%和35%。这样的结果与上述

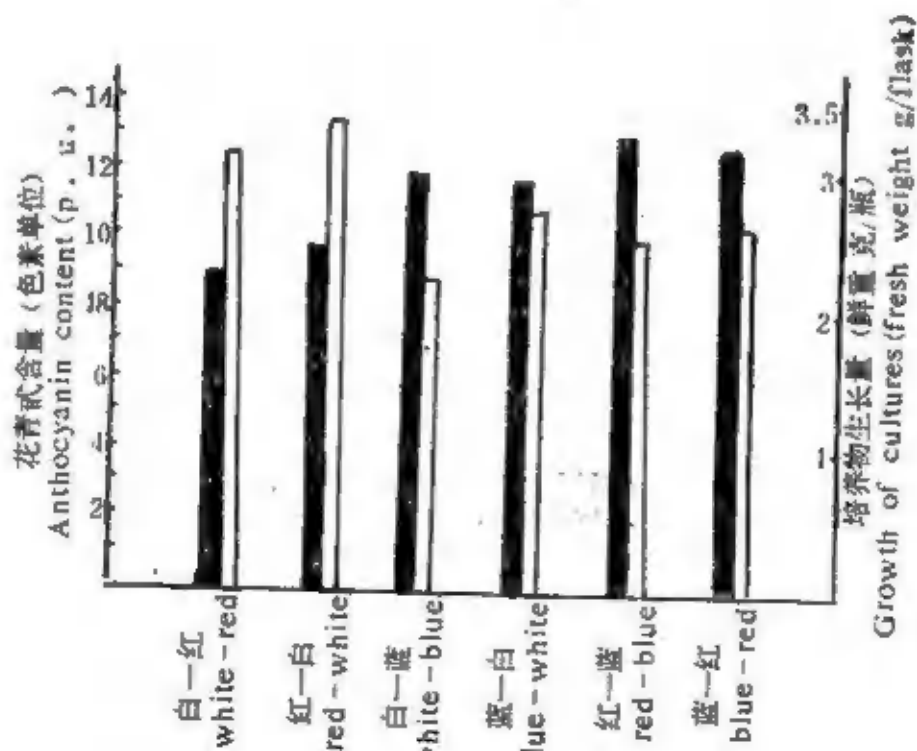


表2. 培养温度对花青甙含量的影响

Table 2. Influence of incubation temperature on the anthocyanin content

温度 Temp.	生长状况 Situation of growth		花青甙含量 anthocyanin content	
	鲜重克/瓶 Fresh weight g/flask	百分数 %	色素单位 (p. u.)	百分数 %
20℃	1.28	100	8.9	100
25℃	1.56	122	13.2	149
28℃	1.15	90	10.9	123

■ 培养90天时间测定。The determination was done at 90 days.

作者在其他植物中的结果不同。我们认为除植物材料不同外,在不同温度下培养的同一种植物材料的花青甙含量与测定的时间有关。紫背天葵培养在28℃和25℃中,营养生长速度比20℃中快,植株的成熟与衰老也会来得早些。从形态上我们观察到,培养90天测定时,在28℃中生长的苗叶柄很长,叶片较小,多数叶片呈绿色,少数叶片深红色,部分叶片开始衰老枯萎。在25℃和20℃中培养的苗叶色较一致,普遍都带淡红色和深红脉,株型较正常。在20℃中培养的苗,由于温度较低,生长速度较慢。90天测定时,苗正处于营养生长旺盛阶段,而不是它积累花青甙的较有利时期,表现出较低。再培养一段时间,它的生长量和花青甙含量会有所提高,这点在第(四)部分测定不同培养时间花青甙含量变化后得到证实。

(四) 不同培养时间花青甙含量的变化

花青甙是植物体的次生产物,随植物生长时期长短、发育阶段不同,它在植物体内产生及积累状况不同。在紫背天葵培养中,究竟什么时间它生长得最好,花青甙含量最高而利于采收呢?测定结果列于表3,结果表明:在75天内,生长量及色素浓度都随培养时间的延长而增加,呈曲线上升;在75—85天期,植物处在生长旺盛阶段,生长量迅速增加,每瓶鲜重由1.76克增至2.60克,由于生长速度快于花青甙的积累,所以花青甙的浓度有所降低,但此期每瓶培养物的花青甙总量还是在增加;到85—95天期,营养生长居于停顿状态,植物组织内花青甙的合成继续进行,有利于组织内花青甙积累,表现为每克培养物中花青甙含量及每瓶培养物中花青甙总量都明显地增加达到最高;在105天测定时,我们观察到部分成熟的叶片趋于衰老或枯萎,从表3中看出,此时花青甙含量及生长量都有所下降。因此培养在以葡萄糖作为碳源的培养基,培养温度为 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 的条件下,采收紫背天葵叶的合适时期是95天左右,但当碳源和培养温度改变时,其生长状况可改变,采收时期亦不同,从温度试验中可推测,提高培养温度,采收期可相应提前一些,肉眼观察植物的长势及叶色亦可作初步确定。

表3. 不同培养时期花青素含量的变化

Table 3. Change of anthocyanin content at various periods of incubation

培养天数 days of incubation	每瓶鲜重 (克) fresh weight per flask (g)	每瓶培养物花青素含量 (色素单位) anthocyanin content per gram cultures (p. u.)	每瓶培养物花青素总量 (色素单位) total anthocyanin content per flask cultures
55	1.66	13.26	22.01
65	1.69	15.72	26.57
75	1.76	26.17	46.06
85	2.60	20.08	52.47
95	2.61	28.92	74.48
105	2.11	24.17	50.99

• 培养温度 (Temp. of incubation) $20 \pm 2^\circ \text{C}$.

参 考 文 献

- [1] 张兰英、李耿光、郭俊彦, 1985, 云南植物研究, 7 (2): 195—202.
- [2] Ball, E. A., J. B. Harborne and J. Ardititi, 1972, *Amer. J. Bot.*, 59(9), 924—930.
- [3] Colijn, C. M., L. M. V. Jonson, A. W. Schram and A. J. Kool, 1981, *Protoplasma*, 107, 63—68.
- [4] Constabell, F., J. P. Shyluk and O. L. Gamborg, 1971, *Planta*, 96, 306—316.
- [5] Eddy, B. P. and L. W. Mapson, 1951, *Biochem.*, 49, 694—699.
- [6] Jakob Straus, 1959, *Plant Physiol.*, 34(3), 536—540.
- [7] Schneider, M. J. and W. R. Stimson, 1971, *Plant Physiol.*, 48, 312—315.
- [8] Siegelman, H. W. and S. B. Hendricks, 1957, *Plant Physiol.*, 32(5), 393—398.
- [9] Smith H. and T. H. Attridge, 1970, *Phytochem.*, 9, 487—495.
- [10] Takashi Matsumoto, Koh Nishida, Masao Noguchi, 1973, *Agr. Biol. Chem.*, 37(3), 561—567.
- [11] Thimann, Kenneth V. and Yvette H. Edmondson, 1949, *Arch. Biochem.*, 22, 33—53.
- [12] Thimann, Kenneth V., 1980, *Senescence in Plants*, pp. 174, 210. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- [13] Withow, R. B., W. H. Klein, L. Price and V. Elstad, 1952, *Plant Physiol.*, 28(1) 1—14.

THE FACTORS AFFECTING ANTHOCYANIN CONTENT IN PLANTLETS OF BECONIA FIMBRISTIPULA IN VITRO II

Zhang Lanying and Li Gengguang

(South China Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract This paper indicates the effects of hormone, light, temperature and time of incubation on anthocyanin content in plantlets of *Begonia fimbri-stipula* Hance in vitro. NAA of concentration from 0.125 mg/l to 1.0 mg/l could increase anthocyanin content, 0.125 mg/l had the best effect. BA, 2ip, ZT decreased anthocyanin content. Light had a marked effects to enhance anthocyanin content of the plantlets. In the range of experiments anthocyanin content increased with the irradiation intensity. The effects of blue, white, red light used alone or combinatly were compared, the effect of enhancing the anthocyanin content appeared to be blue>red>white light. The effect of promoting growth appeared to be white>red>blue. The effect of irradiating red light combined with blue light was better than used alone. There was no visible relation between the effect of varied monochromatic light on anthocyanin content and the sequence of irradiation. 25°C was the favorable temperature of incubation for increasing anthocyanin content and growth. Under the condition of experiment, 95 days were the optimum period for harvesting leaves.

Key words Anthocyanin content; *Begonia fimbri-stipula*; Plantlets in vitro